遺伝子工学研究用試薬　241-08816D

Ampdirect® Plus
取扱説明書

【製品説明】
血液や動植物の組織中には、タンパク質や糖などの酵素反応を阻害する物質が多量に存在しています。そのため、一般的に、PCR を利用して DNA を解析するためには、サンプルから DNA を精製する必要があります。
当社より既に製品化されております Ampdirect®シリーズ（PCR バッファー）は、サンプルに含まれる PCR 阻害物質の作用を抑制する働きがあり、血液からの直接 PCR や粗精製 DNA サンプルからの安定した PCR を可能としました。
この度 Ampdirect®シリーズの改良製品として開発しました「Ampdirect® Plus」は、血液や粗精製 DNA サンプルはもちろん、サンプルの簡単な溶解処理を行うことにより、動植物組織などの幅広い種類のサンプルからの PCR も可能としました。

【キット内容】
2× Ampdirect® Plus　1mL×5 本（20μL 反応系で 500 回分、50μL 反応系で 200 回分）
※PCR に必要な $MgCl_2$ や dNTP も含んでいます。
・$MgCl_2$ 濃度（2×）3mM
・dNTPs 濃度（2×）各 400μM

【保存条件】
・ －20℃（使用期限はパッケージのラベルに表示されています。）
・ 開封後はドライアイスなど、試薬の pH に影響するものと一緒に保管しないでください。
・ 冷蔵で保存する場合は 1 ヶ月以内にご使用ください。

【使用方法】
（１）サンプルの前処理
・ 血液などの体液や口腔粘膜細胞は、PCR 反応液に直接添加することが可能です。
・ 上記以外のサンプルの場合、下記溶解処理をすることを推奨しています。溶解処理後のサンプルは PCR 反応液に直接添加することが可能です。

［サンプル溶解液］

Tris-HCl（pH8.0）	20mM
EDTA	5mM
NaCl	400mM
SDS	0.3%
Proteinase K	200μg/mL

［溶解処理］
サンプルを溶解液に添加し、55℃、1 時間～1 晩で溶解します。

（２）PCR 反応液の調製
PCR 反応液の調製例を下記に示します。

［調製例］
推奨耐熱酵素である BIOTAQ™ HS DNA Polymerase（Bioline）使用例

	［20μL 反応系］	［50μL 反応系］
2x Ampdirect® Plus	10μL	25μL
BIOTAQ™ HS DNA Polymerase (5U/μL)	0.1μL	0.25μL
10μM　5'-Primer	1μL	2.5μL
10μM　3'-Primer	1μL	2.5μL
Sample	0.5μL	1μL
Distilled water	7.4μL	18.75μL

※耐熱酵素の選択について（BIOTAQ™ HS DNA Polymerase 以外の酵素を使用する場合）

・非ホットスタート用耐熱酵素

TaKaRa *Taq*™（タカラバイオ）等の *Taq* DNA Polymerase をご使用ください。

・ホットスタート用耐熱酵素

TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version（タカラバイオ）、Blend Taq™-Plus-（東洋紡績）、Platinum® *Taq* DNA Polymerase（Invitrogen）等の抗 *Taq* 抗体を使用した *Taq* DNA Polymerase をご使用ください。

＊AmpliTaq Gold®（Applied Biosystems）、HotStarTaq® DNA Polymerase（QIAGEN）等の化学修飾型のホットスタート用耐熱酵素は原則的にご使用できません。

（３）PCR 条件

PCR 実施例を下記に示します。

［PCR 実施例］

推奨耐熱酵素である BIOTAQ™ HS DNA Polymerase（Bioline）使用例

95℃, 10min　＊1

94℃, 30sec Annealing Temp., 1min 72℃, 1min　＊2	30-45cycles

72℃, 7min

＊1 BIOTAQ™ HS DNA Polymerase の酵素を活性化するためのステップです。他の酵素を使用する場合は、使用酵素の推奨温度・時間に設定してください。

＊2 増幅サイズが 1kb 以上の場合は、必要に応じて、伸長時間を長くしてください。

【注意事項】

・ 非ホットスタート用耐熱酵素を使用する場合、PCR 反応液を氷冷下で調製してください。
・ Ampdirect® Plus と酵素に付属のバッファーは併用しないでください。
・ 未精製 DNA サンプルから PCR する場合、精製 DNA から PCR する場合よりサイクル数を 5 サイクル程度増やしてください。
・ 未精製 DNA サンプルや濃縮されたサンプルから PCR する場合、阻害物質の種類や量によっては PCR が阻害されることがあります。その場合は、DNA サンプルを蒸留水等で希釈して PCR 反応液に添加してください。
・ 血液から PCR する場合、標準量（PCR 反応液 50μL 当たり血液 1μL、20μL 当たり血液 0.5μL）以上の血液を添加しないでください。また、添加後、攪拌は行わないでください。

【技術的な内容に関するお問合せ窓口】

株式会社島津製作所　分析計測事業部

バイオ・臨床ビジネスユニット

TEL：075-823-1351,　FAX：075-823-1364

Web：https://solutions.shimadzu.co.jp/form/ana/bio-contact.htm

※1　PCR（polymerase chain reaction）に関する特許は Hoffmann-La Roche 社が保有しています。

※2　Ampdirect® Plus は試験研究用試薬です。人、動物の診断・治療用として承認されていません。医療品、化粧品、食品など、他の用途で人、動物の身体に直接使用しないでください。

※3　MSDS は弊社ホームページからも入手することができます。

http://www.an.shimadzu.co.jp/bio/reagents/amp/index.htm